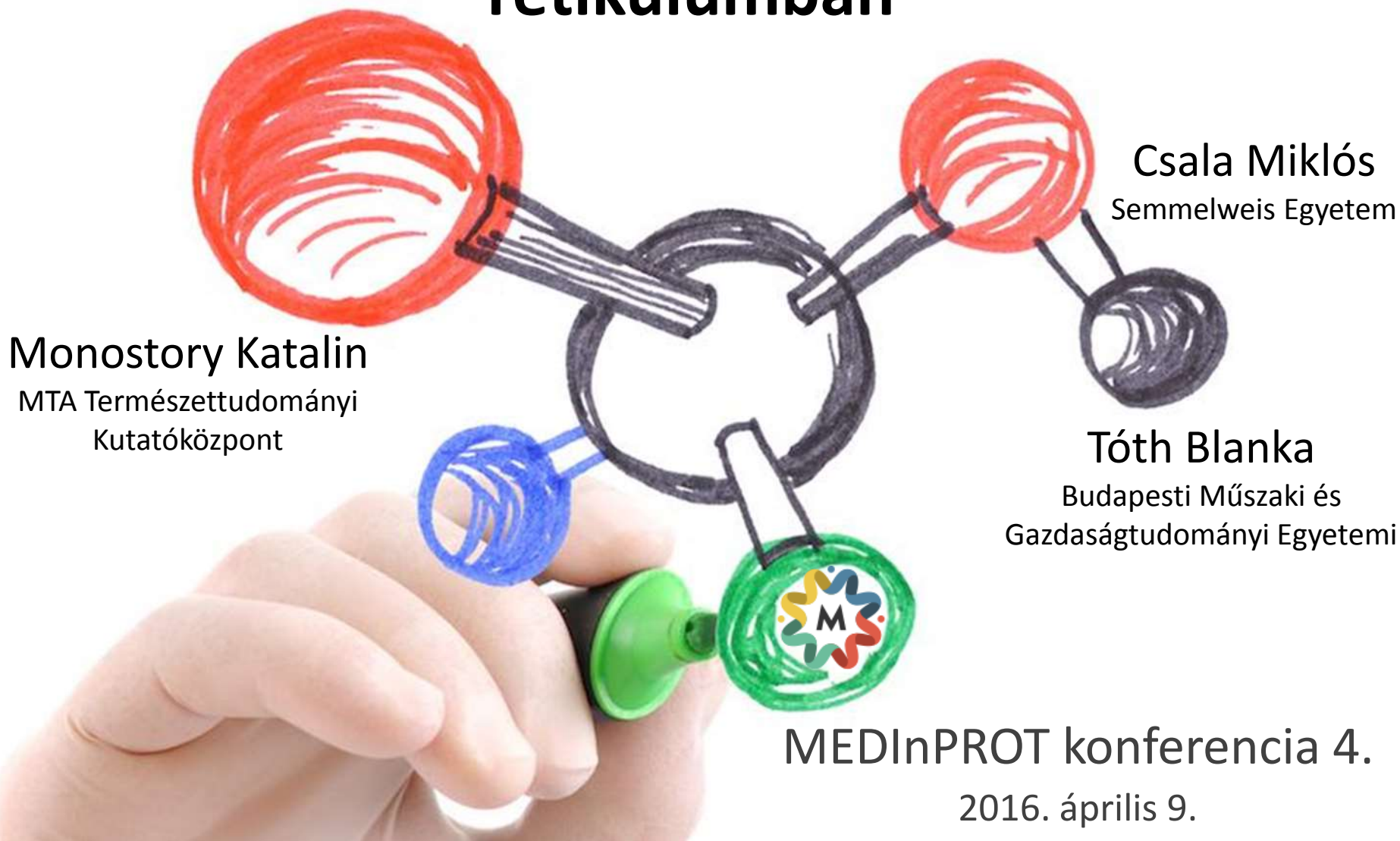
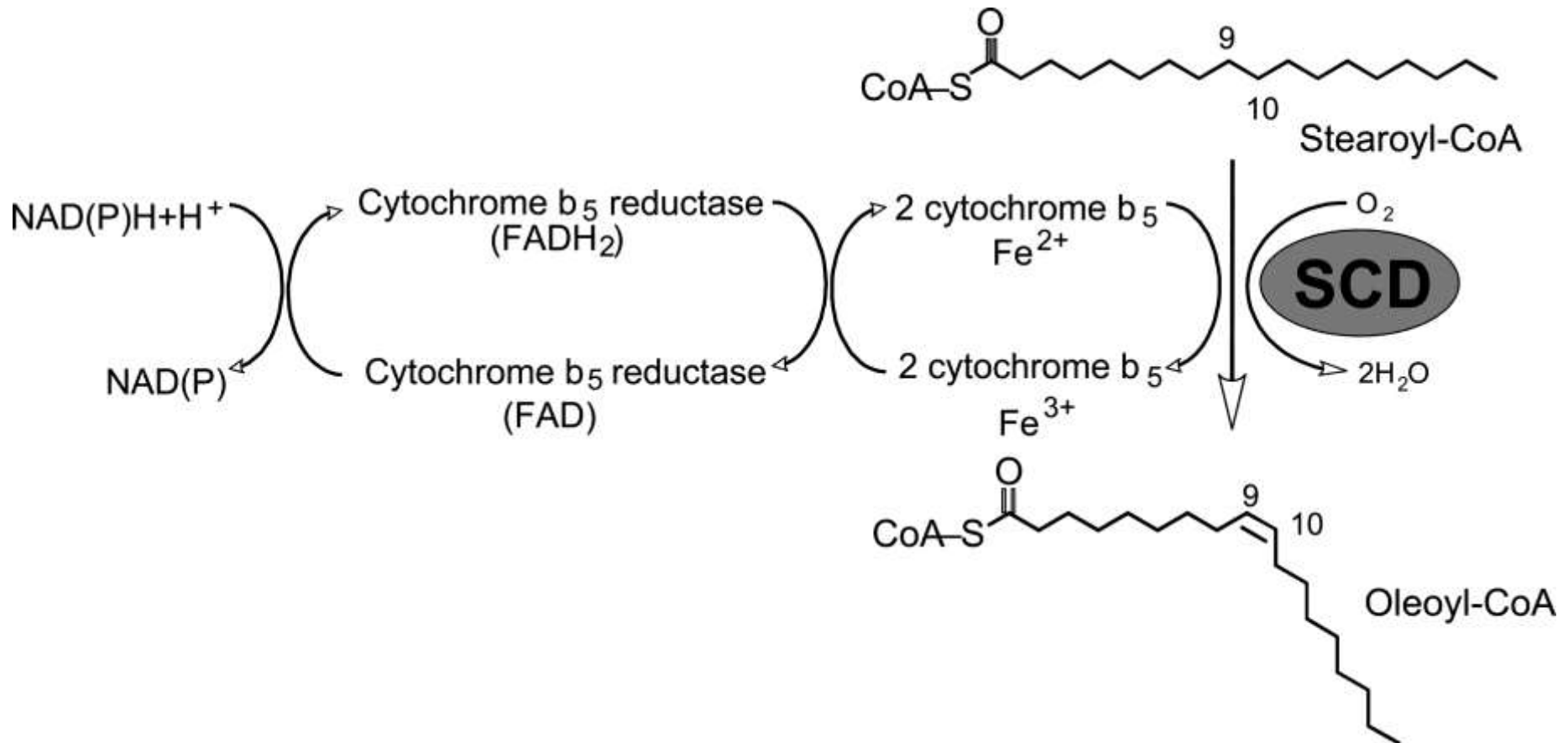


# A NAD(P)H-citokróm $b_5$ oxidoreduktáz fehérje-interakciói az endoplazmás retikulumban

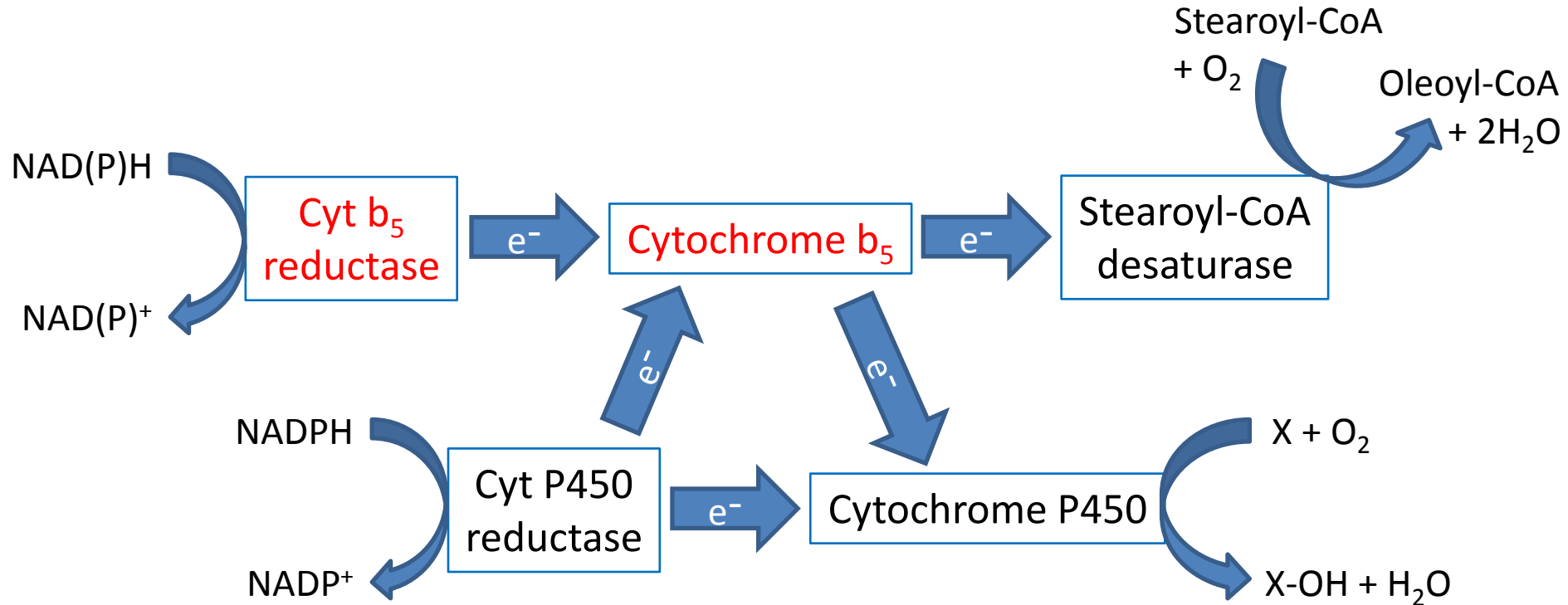


MEDInPROT konferencia 4.  
2016. április 9.

# A zsírsav-deszaturáció elektrontranszfer-lánca az ER-ben



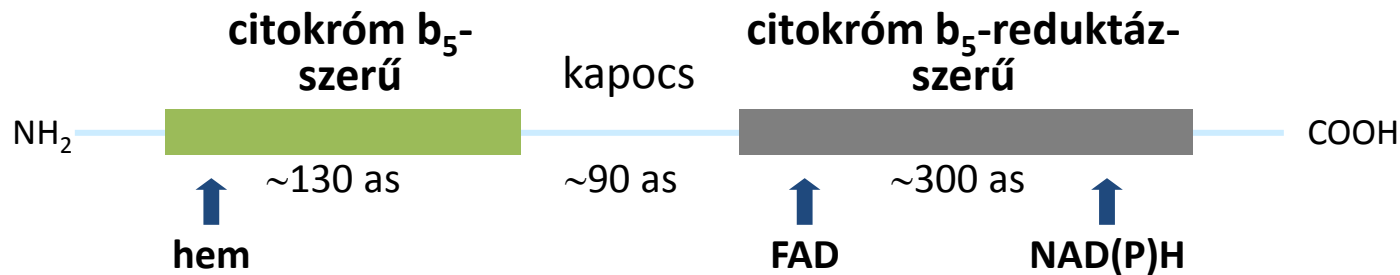
# Elektrontranszfer-láncok kapcsolata az ER-ben



# Ncb5or

## NAD(P)H-citokróm b5 oxidoreduktáz

- természetes fúziós fehérje, szolúbilis
- minden szövetben kifejeződik
- lokalizációja ER vagy citoplazma (?)



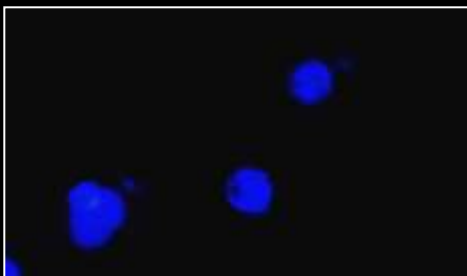
- **NCB5OR<sup>-/-</sup> egér:**
  - telített/telítetlen zsírsavak aránya nő
  - lipoatrófia
  - lipotoxicitással szemben fokozott érzékenység
  - hasnyálmirigy β-sejtjeinek pusztulása
  - csökkent inzulinszint, hiperglikémia
  - inzulinfüggő diabétesz

# Az Ncb5or-EGFP fúziós fehérje lokalizációja

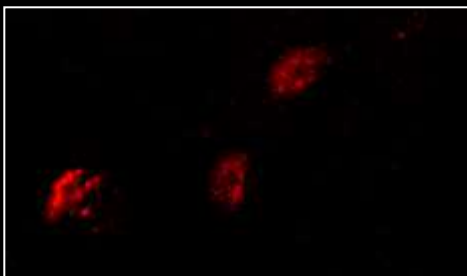
HEK293T  
sejtek



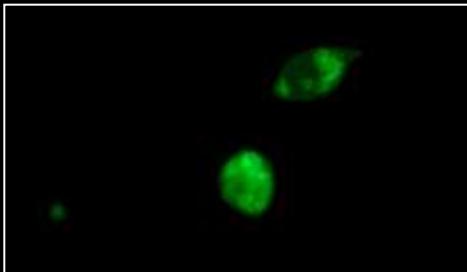
DAPI



BODIPY TG

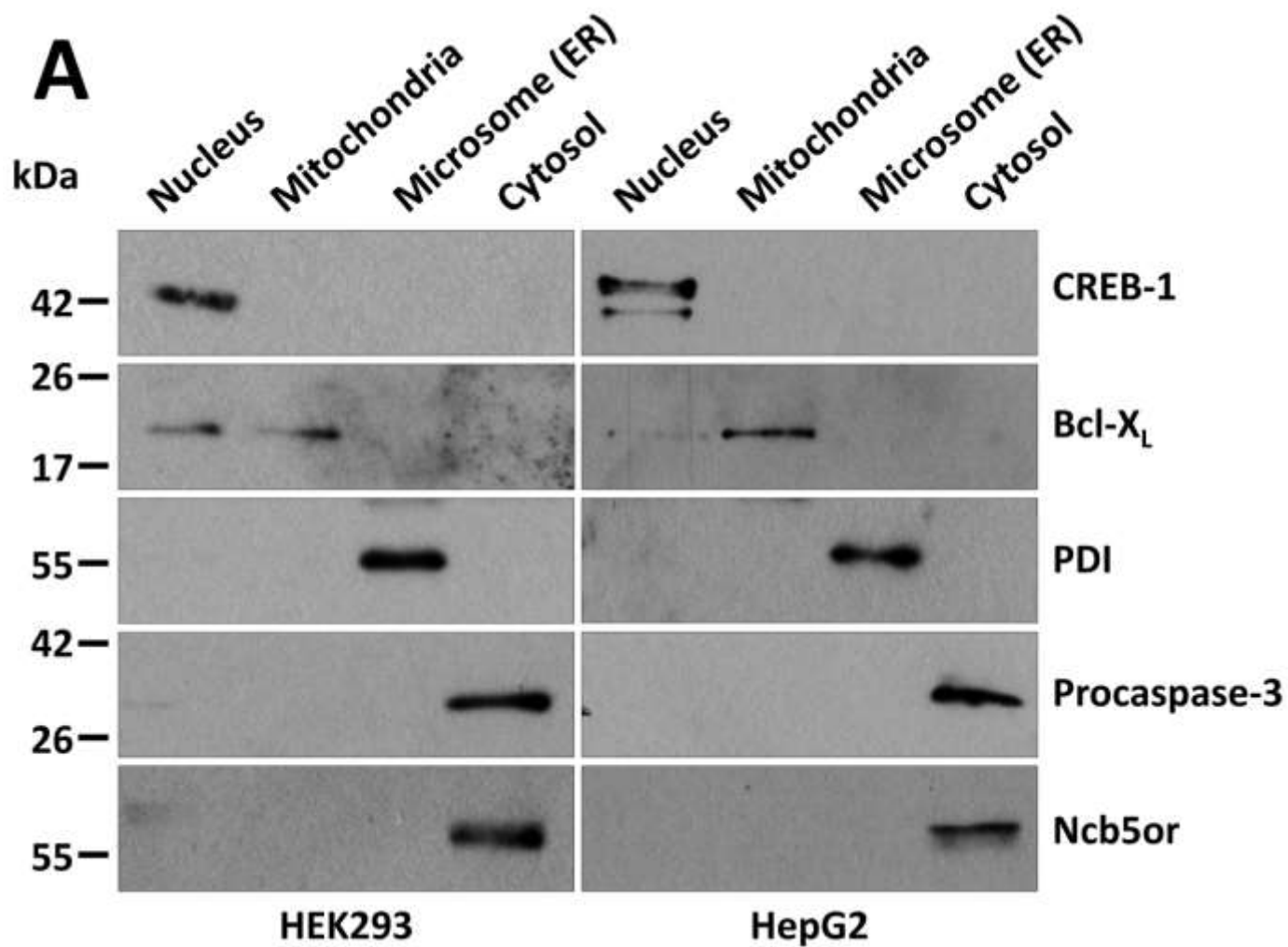


EGFP

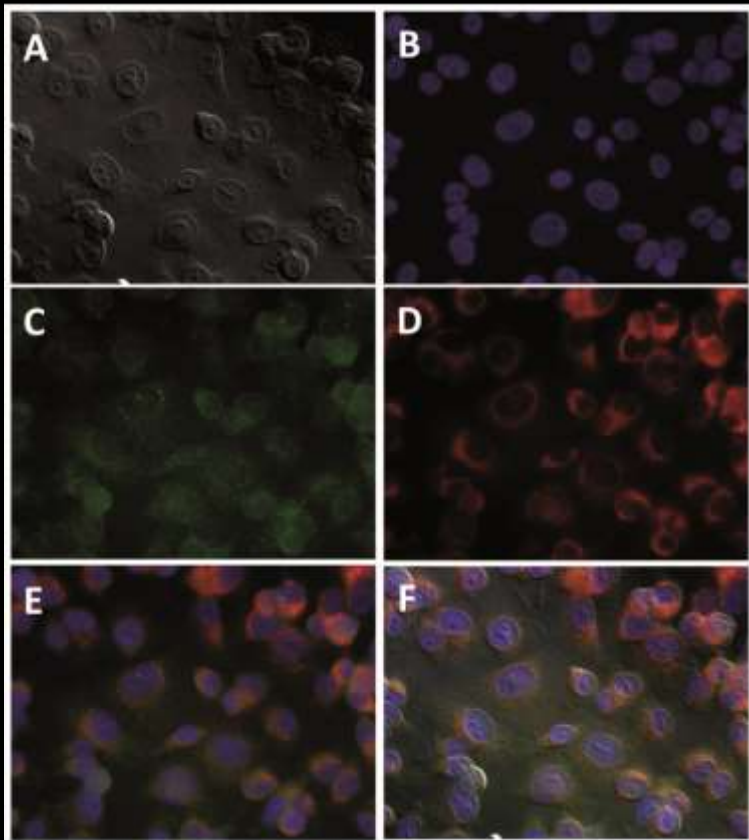


egyesített

# Endogén Ncb5or a szubcelluláris frakciókban (western blot)

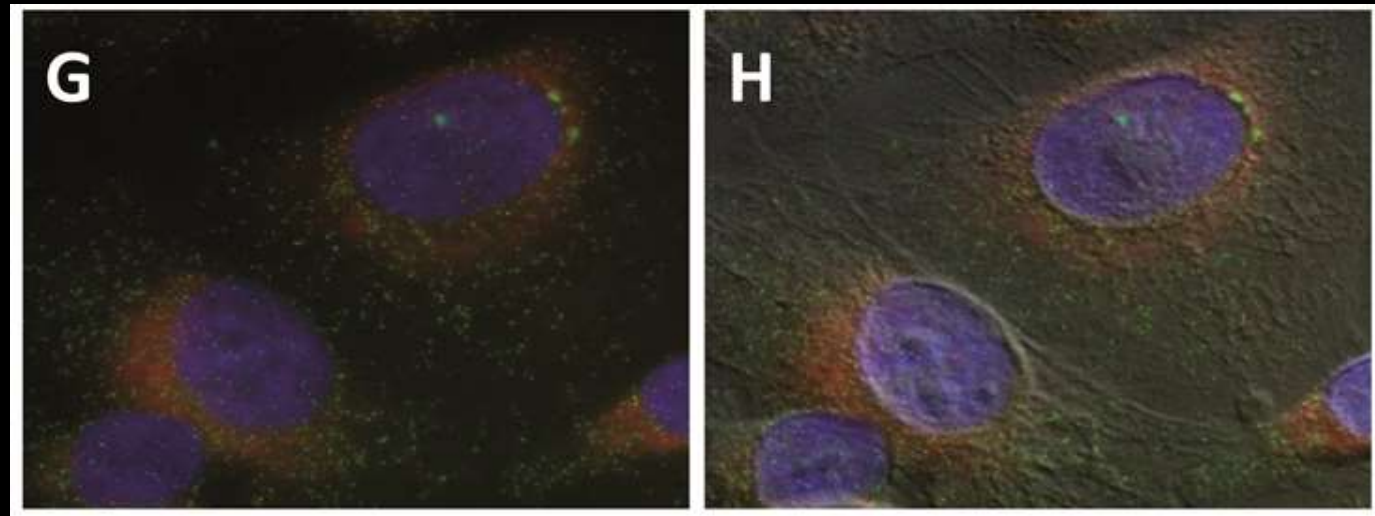


# Endogén Ncb5or fehérje HepG2 sejtekben (immunfluoreszcencia)

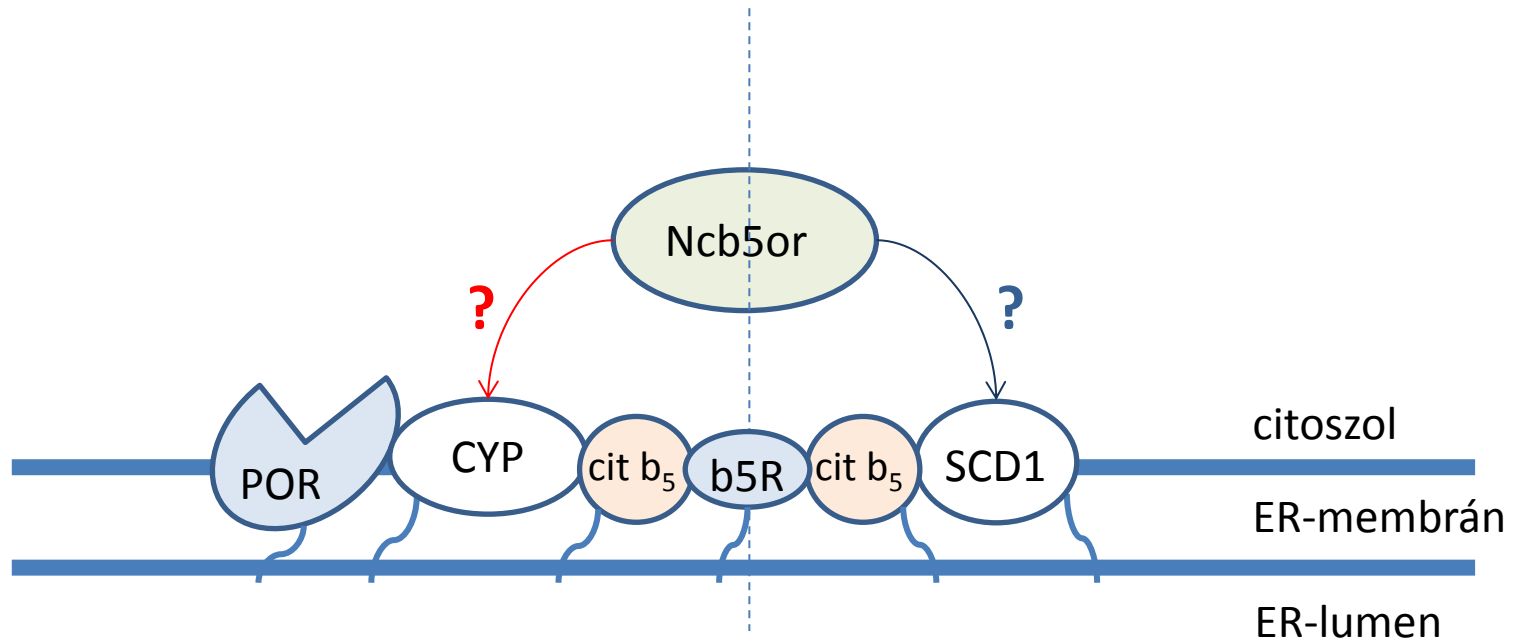


Nomarski optika

DAPI - kék  
PDI - piros  
NCB5OR - zöld



# A citoplazmatikus Ncb5or feltételezett szerepe az ER elektrontranszfer-láncaiban



CYP: citokróom P450  
POR: NADPH-CYP-oxidoreduktáz  
cit b<sub>5</sub>: citokróom b<sub>5</sub>  
b5R: cit b<sub>5</sub> reduktáz

SCD1: sztearil CoA deszaturáz 1  
Ncb5or: NAD(P)H-b<sub>5</sub>-oxidoreduktáz



# Celluláris és szubcelluláris vizsgálati modellek

- 1) SCD1-et és/vagy CYP izoenzimet (pl. CYP2C19, CYP3A4) termelő HEK293 (humán embrionális vese sejtvonala) sejtek, amelyekben vizsgálhatók az egyes enzimaktivitások  $b_5$ - és/vagy Ncb5or-kotranszfektálás, illetve géncsendesítés hatására;
- 2) Humán májszövetből preparált mikroszóma, amelyben lévő enzimek működése kofaktorok (NADH, NADPH), citoszol-komponensek vagy tisztított Ncb5or fehérje adagolásával befolyásolható;
- 3) Szuperszóma, amelyek egyféle CYP izoenzimet tartalmaznak az egyes elektronközvetítő fehérjékkel kombináltan, így alkalmasak a kívülről hozzáadott Ncb5or szerepének tisztázására.

# Cyp b<sub>5</sub>-tel együttműködő és nem együttműködő CYP izoenzimek mRNS-expressziója

Sejtvonalakban

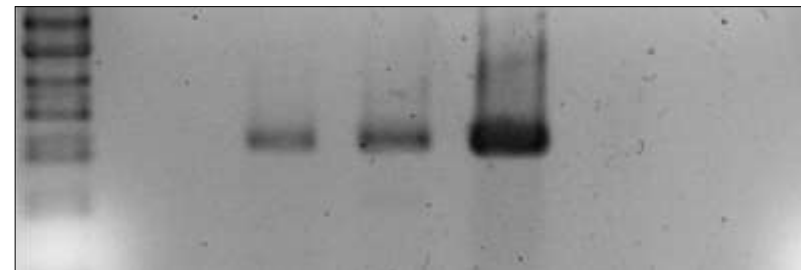
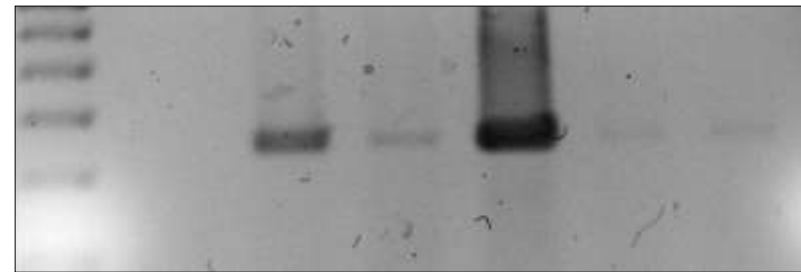
SKNFI  
asztrocitóma  
IMR32  
Y79  
HEK293  
HepG2

Humán szövetekben

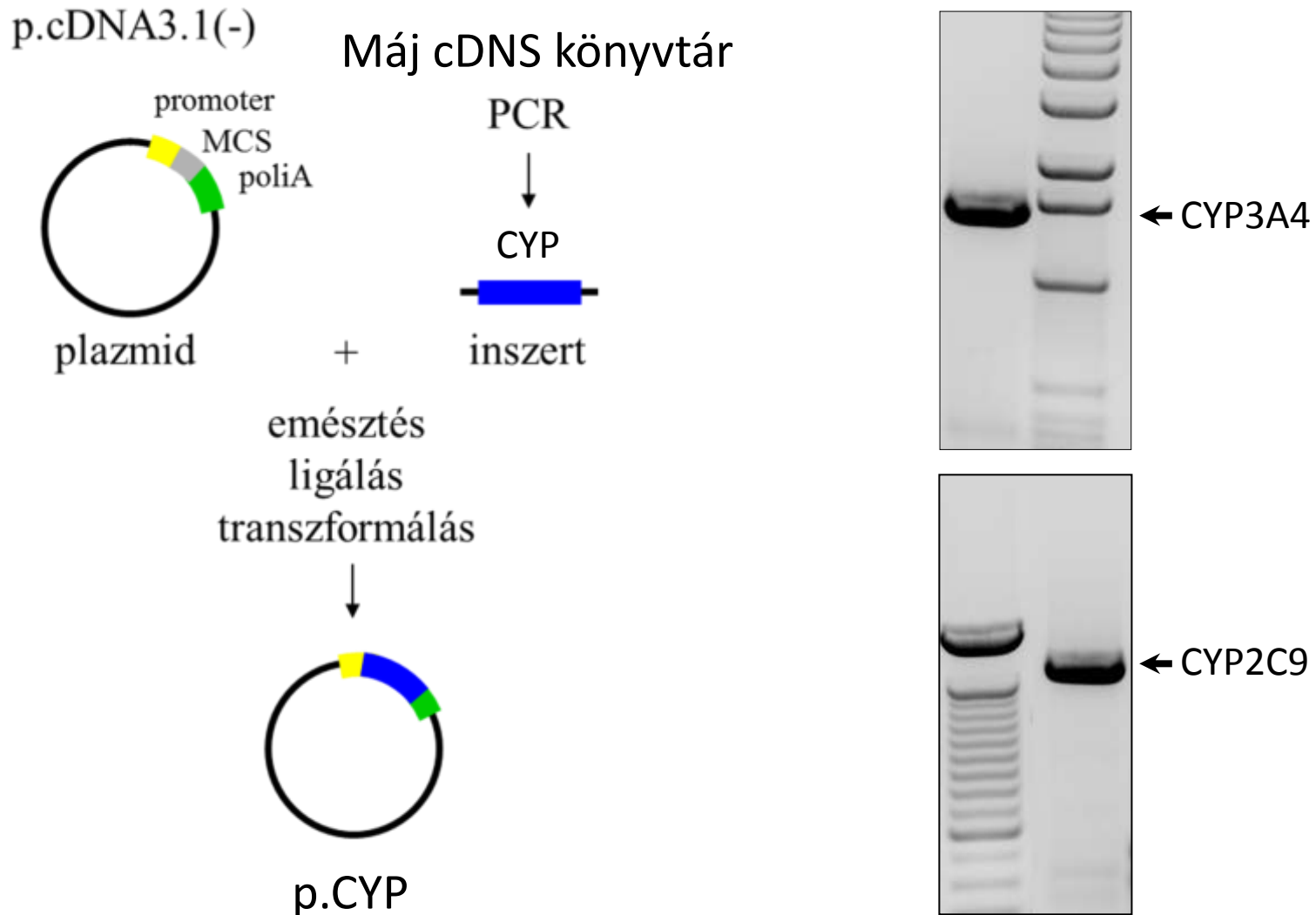
agy  
vese  
izom  
máj  
szív  
limfocita

← CYP2C9 →

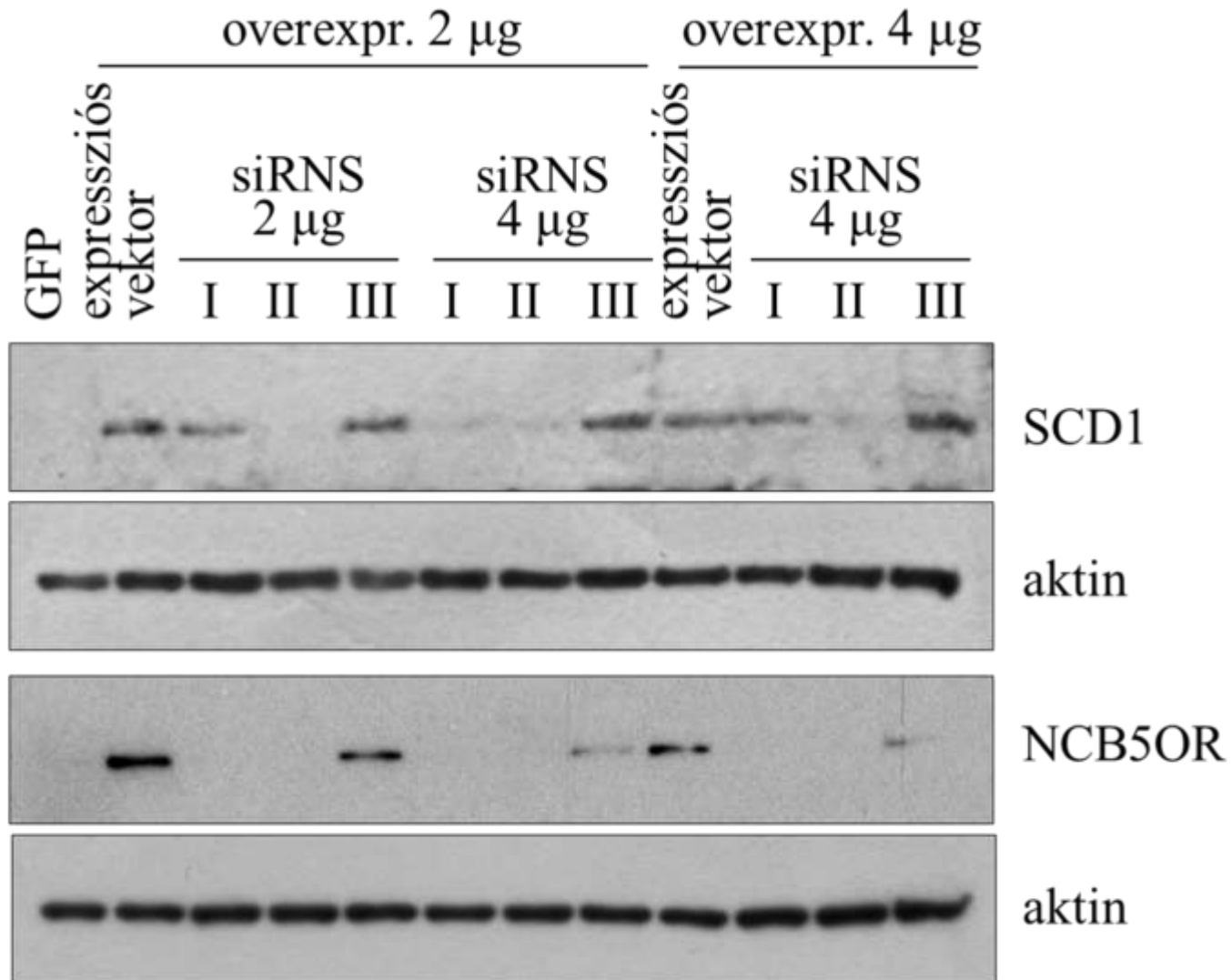
← CYP3A4 →



# Cyp b<sub>5</sub>-tel együttműködő és nem együttműködő CYP izoenzimek klónozása humán máj cDNS-ből

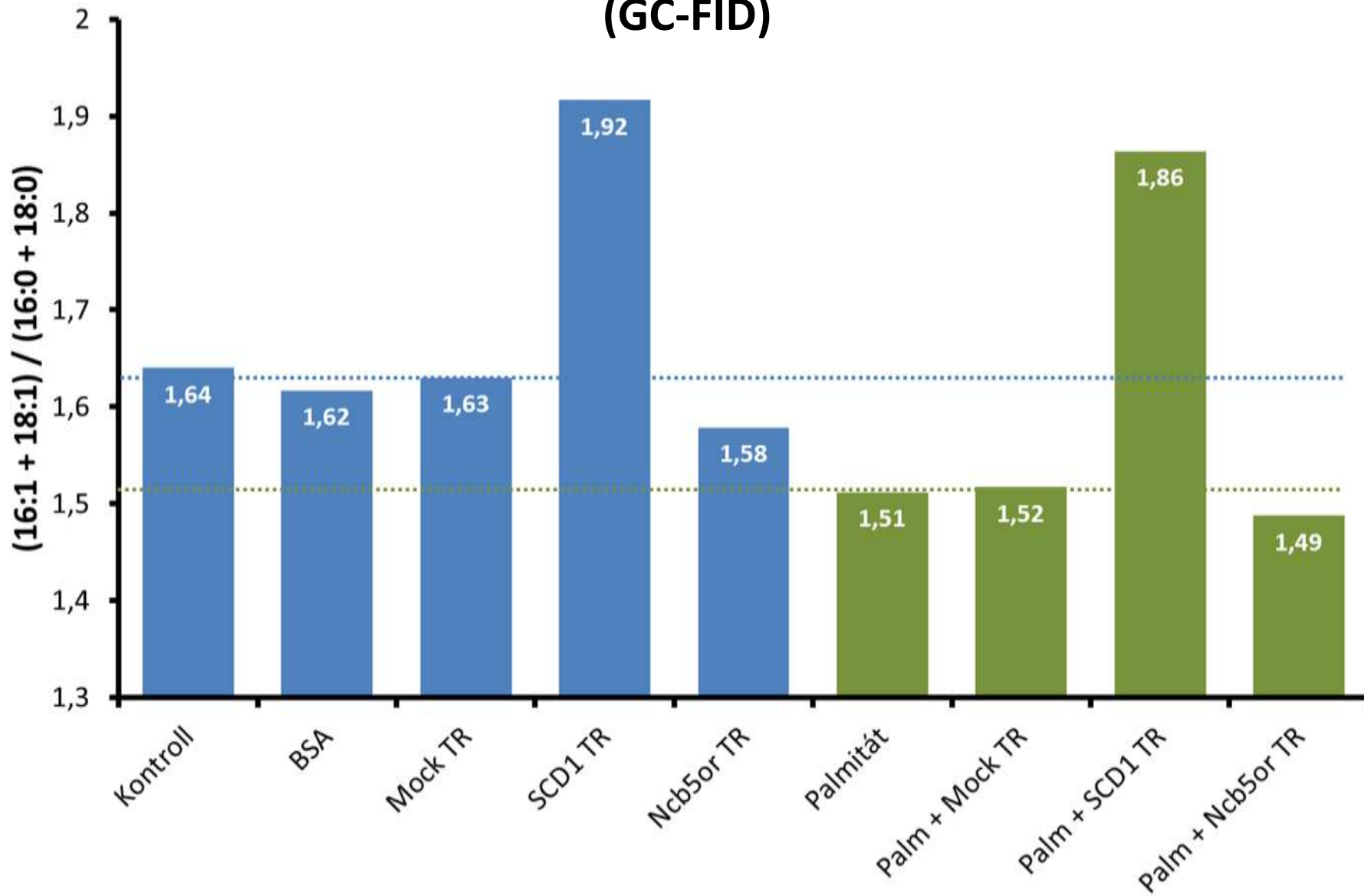


# SCD1 és Ncb5or termeltetése és csendesítése HEK293T sejtkben



# Telítetlen/telített zsírsavarány változása SCD1- és Ncb5or-transzfektált HEK293T sejtekben

(GC-FID)



# RÉSZTVEVŐK

SE Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet

- Kereszturi Éva
- Zámbó Veronika



BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék

- Tóth Blanka



MTA Természettudományi Kutatóközpont

- Sirok Dávid
- Déri Máté

